

圃場還元利用されている実際的な牛ふん尿堆肥に含まれる腐植酸およびフルボ酸の化学的特徴*

李 香珍¹・谷 昌幸^{2,3}・相内大吾¹・小池正徳²・倉持勝久²

キーワード 牛ふん尿堆肥, 圃場還元, 腐植酸, フルボ酸, FT-IRスペクトル

1. はじめに

牛ふん尿の堆肥化とその利用は、北海道の農畜産業における最も重要な課題の一つである。とくに、フリーストール牛舎などから排出される乳牛ふん尿の場合には、敷料の使用量が少ないために水分含量が高く、好気的な発酵による堆肥化が進行しないケースが多くなってきている(志賀ら, 2001; 北海道立農業・畜産試験場家畜ふん尿プロジェクトチーム, 2004)。一方、肥育牛舎から排出される肉牛ふん尿の場合には、バークやおがくずなど木質系の敷料が利用されることが多いために水分含量が低く、好気的な発酵がある程度進みやすいものの、木質物が概して難分解性であるため堆肥の腐熟化が不十分となることが多い(原田, 2004)。このように堆肥化や腐熟化が不十分である堆肥を圃場に施用すると、未熟堆肥中の易分解性有機物の急激な分解と、生育阻害物質である揮発性脂肪酸やフェノール性酸が生じることなどにより、窒素飢餓や土壌の異常還元に加え、作物に発芽障害や生育抑制を引き起こすことが知られている(原田, 1983; Harada *et al.*, 1993)。一方で、家畜ふん尿などの有機性廃棄物の適切な堆肥化や腐熟化を行うことにより、堆肥がより良い機能を有する可能性について明らかに示すことができれば、牛ふん尿の積極的な処理と活用につながると考えられる。

海外では、とくにヨーロッパを中心に、様々な有機廃棄物の堆肥化や腐熟化に伴う“腐植化”に関する研究が多数行われている。例えば、固液分離した乳牛ふん尿の堆肥化により、堆肥から抽出される腐植酸の腐植化度が高まったことや、下水汚泥の堆肥化に伴って、堆肥化初期に腐植酸の含量が一旦減少し、堆肥化の進行に伴って再び増加することが報告されている(Inbar *et al.*, 1990; Veeken *et al.*,

2000)。また、家畜ふん尿や各種の有機性廃棄物などには腐植酸やフルボ酸などの腐植物質が含まれており、堆肥化の発酵過程においてより安定した腐植化度の高い形態へと変化すると報告されている(Sánchez-Menedero *et al.*, 2002)。一方、わが国でも稲わら堆肥やおがくず牛ふん堆肥などの堆肥化や腐朽化に伴う腐植の形態および光学的特性の変化について調べられており、稲わら堆肥の粒径の違いにより腐植酸の光学的性質や構造が若干異なること(広瀬・熊田, 1972)、稲わら堆肥やおがくず牛ふん堆肥に含まれる腐植酸がリグニンの性格によって特徴付けられること(Suzuki and Kumada, 1972; 1976)、堆積方式により製造されたおがくず牛ふん堆肥の堆積期間や堆積部位によって腐植酸の吸光係数や相対色度に変化し、腐植化の進行が認められることなどが報告されている(Suzuki and Kumada, 1976; 渡辺ら, 1981)。以上のように、植物遺体や有機性廃棄物の堆肥化に伴って腐植の量や腐植化度が変化することが国内外問わず広く報告されているが、多くの研究では、実験室内や小規模試験で試作されたモデル的な堆肥を対象としており、好気的な発酵が起こるように最適な水分調整や切返しが行われ、中には保温により腐朽化を促進させるなど、堆肥化や腐熟化が確実に起こることを前提に試料の調製が行われている。しかし、前述したように農業生産現場で現実的に製造され、かつ実際に圃場還元により利用されている堆肥は、必ずしも十分な好気発酵を伴う堆肥化が行われていない、あるいは腐熟化が進んでいない堆肥が多いのが実状であり、そのような堆肥を対象としている研究はほとんどない。

一方、堆肥や土壌に含まれる腐植物質がオーキシンやジベレリンのようなホルモン様生理活性を持つことが報告されており(Cacco and Dell'Agola, 1984; Pizzeghello *et al.*, 2001; Nardi *et al.*, 2002)、腐植酸やフルボ酸が植物への硝酸イオンやカリウムイオンの養分吸収促進に直接的な影響を与えることが知られている(Dell'Agola and Nardi, 1987; Maggioni *et al.*, 1987)。また、腐植物質は鉄や亜鉛などとの錯体形成能により、これら必須微量元素の植物への吸収を促進することも報告されている(Pinton *et al.*, 1998; Clapp *et al.*, 2001)。このような、植物の生理活性や養分吸収などに及ぼす効果は、植物根への働きかけや細胞内への取り込みによって生じる現象であり、堆肥や

* 本研究の一部は2006年9月日本土壌肥料学会秋田大会において発表した。

¹ 岩手大学大学院連合農学研究科(帯広畜産大学所属, 080-8555 帯広市稲田町西2線11番地)

² 帯広畜産大学地域環境学研究部門(080-8555 帯広市稲田町西2線11番地)

³ 連絡先: E-mail: masatani@obihiro.ac.jp

2008年7月14日受付・2009年3月16日受理

日本土壌肥料学雑誌 第80巻 第4号 p. 335~346 (2009)

土壤に含まれる可動性の高い水溶性（溶存）腐植物質に起因すると考えられる。とくに、堆肥の圃場還元に伴う植物生育へ及ぼす腐植物質の直接的な影響を評価し、堆肥の機能や有効性を明らかにしていくためには土壤中での可動性が高い水溶性腐植物質を対象とすべきであると考えられるが、多くの研究では水酸化ナトリウム溶液やピロリン酸ナトリウム溶液によって抽出される腐植物質を対象としており、堆肥の圃場還元に伴う実際的な効果として論じることが難しいと考えられる。

本研究では、堆肥化の進行や腐熟度の異なる牛ふん尿堆肥について、堆肥製造業者や一般の畜産農家および畑作農家が製造し、かつ圃場還元により実際に利用されている堆肥を供試し、腐植の特性による牛ふん尿堆肥の評価を行うために、牛ふん尿堆肥から水および水酸化ナトリウム溶液により腐植酸およびフルボ酸を抽出し、腐植の形態分析および腐植酸のスペクトル解析を行い、それらの化学的特徴を明らかにすることを目的とした。

2. 試料と方法

1) 牛ふん尿堆肥試料

まず、堆肥化期間の違いが牛ふん尿堆肥の腐植化に及ぼす影響を調べるために、堆肥化における堆積期間が異なる堆肥試料を供試した。牛ふん尿パーク堆肥の製造と販売を行っている森産業株式会社（北海道河東郡士幌町）の堆肥製造工場において、肉牛ふん尿を主原料としたパーク堆肥を2004年9月に採取した。このパーク堆肥は、同工場に隣接する畜産農家において排出された肉牛ふん尿と、製材工場から排出されるパークの混合物を堆積・切返しして製造されている。肉牛ふん尿とパークの混合比率は容積比で6:4であり、堆積後1ヶ月毎に切返しを行い、約15ヶ月間の堆積により堆肥化を行っている。本研究では、堆積期間が5ヶ月間および12ヶ月間の堆肥計2点を、いずれも切返し作業の直後に採取した。

次に、堆肥の原料や発酵過程などの違いが牛ふん尿堆肥の腐植化に及ぼす影響を調べるために、堆肥化の進行および腐熟度が著しく異なる4点の堆肥を供試した。

前節でも述べたように、フリーストール牛舎などから排出される乳牛ふん尿の場合には、敷料の使用量が少ないために水分含量が高く、十分な通気が確保できないために好気的な発酵による堆肥化が進行しない（北海道立農業・畜産試験場家畜ふん尿プロジェクトチーム, 2004）。本研究では、ホクレン畜産技術研究所（北海道常呂郡訓子府町）のフリーストール牛舎から排出された搾乳牛のふん尿を堆肥盤に堆積し、2004年6月末より5ヶ月間堆積した。堆積後1ヶ月毎に切返しを行い、堆積期間が1ヶ月間と5ヶ月間の堆肥計2点を、いずれも切返し作業の直後に採取した。この堆肥はコンクリート床の屋根付堆肥盤に堆積し、月に1度の切返しを行ったにも関わらず、堆積期間中の堆肥内部温度は20~40℃の範囲であり、活発な好気発酵に伴う十分な温度上昇（60~70℃）には至らなかったため、堆

積期間において終始水分が高く保持されていた。堆積5ヶ月後も流動性が高く、牛ふん尿特有の臭気が強く感じられたことから、好気的な発酵を伴う堆肥化はほとんど進行しなかったと考えられた。

一方、肥育牛舎などから排出される肉牛ふん尿の場合では、木質系の敷料が利用されることが多いために水分含量が低く、好気的な発酵がある程度進みやすいものの、木質物が概して難分解性であるため堆肥の腐熟化が不十分となることが多い（原田, 2004）。本研究では、有限会社大平畜産工業（北海道河東郡鹿追町）の肥育牛舎において肉牛ふん尿堆肥1点を採取した。同牛舎では、敷料としてカラマツ間伐材を主原料とするエコカールマットと呼ばれるスライス状チップを使用している。同牛舎では、2~3週間使用した敷料について、エアレーション施設を用いて発酵と乾燥を行い、再び戻し敷料として使用している。敷料として3回再使用した時点で、ふん尿の臭気が強くなるため、敷料としての使用をやめて堆肥として利用ないし販売している。この段階の堆肥を採取したが、好気的な発酵が十分に行われたにも関わらず木部の大部分が残っており、腐熟化が不十分であると考えられた。一方、この堆肥を普通畑で利用している有限会社大牧農場（北海道河東郡音更町）では、この敷料堆肥に生鶏糞と野菜残渣を容積比6:3:1の割合で混合して再発酵させた堆肥を製造している。混合後に自動攪拌装置付きのオープン式堆肥盤で約2ヶ月間発酵させ、さらに約12ヶ月間の堆積により二次発酵させている。一次発酵時には好気的な発酵に伴う温度上昇（60~70℃）が認められ、さらに堆積後には敷料の木部組織がほとんど視認できない程度まで腐熟化が進んでいた。本研究では、この再発酵・堆積後の混合堆肥1点を採取した。

上記の堆肥試料計6点について、現地にて採取した後に速やかに実験室へ持ち帰り、105℃の通風乾燥機内で24時間以上乾燥して堆肥現物当たりの水分含量を測定した。さらに、乾燥した堆肥を粉碎機にて微粉碎した試料を調製して以下の実験に供試した。なお、堆肥から腐植を水抽出するためには未乾燥試料を用いることが好ましいが、とくに好気的な発酵がほとんど起こっていない堆肥や木質系の副資材が多く残る堆肥から均質な試料を採取することは極めて困難であり、本研究では乾燥と微粉碎による前処理を行った試料を供試した。

2) 堆肥の理化学性と腐熟度

試料のpHおよびECは、それぞれガラス電極法および白金電極法により測定した。灰分含量は、550℃のマッフル炉で4時間の強熱を行い、重量減少量を測定して求めた。全炭素・窒素量はCHN全自動元素分析装置（エレメンタル社：varioELIII）を用いた乾式燃焼法により測定した。

堆肥の腐熟度指標として、熱水抽出液によるコマツナ幼植物発芽試験を行った。この試験は堆肥成分の中で、コマツナの発芽等に対し害を及ぼす成分の有無を検証することを目的とした（日本土壤協会, 2000）。試料2.5gを100mL三角フラスコに測り取り、沸騰水50mLを加え

た。アルミホイルでふたをして1時間の静置後、定量ろ紙 (ADVANTEC: No. 6) を用いてろ過した。発芽試験シート (富士平工業株式会社: たねびた) にコマツナ種子を50粒播き、プラスチックシャーレに敷いた。ろ液10 mLをシャーレに分注し、20°Cの恒温機に静置した。なお、対照区として蒸留水10 mLを入れたものを用意した。試験開始から2日目に発芽数を計測し、発芽した種子については根長を測定した。試験は3連で行った。

3) 腐植の抽出と形態分析

本研究では、土壤中での可動性が異なる腐植物質について比較するために、蒸留水および0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液により腐植を抽出した。

水抽出では、乾燥・微粉碎した試料1 gに蒸留水50 mLを加えて室温で16時間振とうし、遠心分離 (10000 G, 15分間) と孔径0.45 μmのメンブランフィルター (ADVANTEC: セルローズアセテートタイプ) を用いたろ過により抽出液を得た。水酸化ナトリウム溶液による抽出では、乾燥・微粉碎した試料1 gを遠沈管に測り取り、0.05 mol L⁻¹硫酸15 mLを加えて1時間振とうし、遠心分離 (10000 G, 15分間) により上澄み液をデカントした後に、0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液15 mLを加え、室温で16時間振とうした。振とう後、硫酸ナトリウム0.5 gを加えて溶解させてから遠心分離 (10000 G, 15分間) し、得られた上澄み液を50 mL容メスフラスコに移した。遠沈管に3%硫酸ナトリウム含有0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液10 mLを加え、1時間振とう後、遠心分離 (10000 G, 15分間) を行った。上澄み液は上記と同じ50 mL容メスフラスコに移した。この操作をもう1度繰り返し、50 mL容メスフラスコに集めた抽出液を0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液を用いて定容した。

抽出された腐植の分画と定量、および形態分析は以下の通りに行った (Kumada *et al.*, 1967; 熊田, 1981; Maie *et al.*, 2002)。得られた抽出液の一部に濃硫酸を加えてpH 1に調整し、一晚静置して腐植酸画分を沈殿させた。沈殿を定量ろ紙 (ADVANTEC: No. 6) 上に集め、0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液で再溶解させて腐植酸画分を得た。ろ液についてはポリビニルピロリドン樹脂カラム (和光純薬工業: Polyclar VT) に通し、0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液で脱着させてPVP吸着フルボ酸画分を得た。なお、堆肥から抽出され、上記操作で分画される腐植酸画分およびPVP吸着フルボ酸画分には非腐植物質も含まれる、あるいは分画されない画分にも腐植物質が含まれると考えられるが (熊田・鈴木, 1969; Watanabe and Kuwatsuka, 1992)、本研究では各画分をそれぞれ便宜的に堆肥から抽出された腐植酸およびフルボ酸として取り扱うことにした。分画した腐植酸液およびフルボ酸液中の有機炭素濃度を重クロム酸カリウム-硫酸混液を用いた比色法により測定した (立川, 1966)。

また、腐植酸液の有機炭素濃度と波長400 nmおよび600 nmにおける吸光度から、 $\Delta \log K$ (色調係数) とRF

値 (相対色度) を算出した (太田, 1985)。

$$\Delta \log K = \log (E_{400}/E_{600})$$

$$RF = (E_{600} \times 1000)/(b \times 33.3)$$

ただし、 E_{400} と E_{600} はそれぞれ波長400 nmおよび600 nmにおける腐植酸液の吸光度、 b は腐植酸液2 mL中の有機炭素量 (mg)

4) 腐植酸のスペクトル解析

上記の操作において、腐植酸の沈殿物を水酸化ナトリウム溶液で再溶解後、直ちに波長220 nmから700 nmまでの紫外可視吸収スペクトルについて、自記分光光度計 (島津製作所: W1240) を用いて測定した。

一方、水抽出および0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液により得られた抽出液の一部について、濃塩酸を加えてpH 1.0に調整し、一晚静置して腐植酸を沈殿させた。腐植酸の沈殿を定量ろ紙 (ADVANTEC: No. 6) 上に集め、0.1 mol L⁻¹水酸化ナトリウム溶液で再溶解させた後に、陽イオン交換樹脂カラム (SUPELCO: Amberlite IR-120) に通過させてH⁺型に変換し、凍結乾燥を行った。得られた腐植酸粉末をメノウ乳鉢で粉碎し、簡易プレスを用いてKBrペレットを作成した。希釈濃度は100倍とした。波数400 cm⁻¹から4000 cm⁻¹までの赤外吸収スペクトルについて、フーリエ変換赤外線分光光度計 (日本分光: FT-IR420) を用いて透過法で測定した。測定結果は、透過度を吸光度に変換したスペクトルとして示した。

3. 結果および考察

1) 堆肥化期間が異なる牛ふん尿バーク堆肥の理化学性、腐熟度、および腐植の形態

堆肥化期間が異なる牛ふん尿バーク堆肥の理化学性およびコマツナ発芽試験の結果を表1に示した。堆肥化期間の経過に伴って、水分含量、全炭素含量およびC/N比は減少し、灰分含量、ECおよび全窒素含量が増加した。これは、微生物による有機物の分解と無機化、発酵熱の上昇による水分の蒸発など、好氣的な発酵を伴う堆肥化特有の特徴を表している (松崎, 1992; 藤原, 2003)。また、コマツナ発芽試験の結果では、堆肥化期間の経過に伴って、発芽率および根長指数が増加し、堆肥化12ヶ月後では発芽率が90%以上となり、作物に悪影響を及ぼさない程度まで腐熟化が進行していると考えられた。

一方、堆肥化期間が異なる牛ふん尿バーク堆肥の腐植の形態分析結果を表2に示した。堆肥化に伴い、いずれの抽出でも、沈殿部割合 (PQ) や腐植酸の相対色度 (RF値) が増加し、色調係数 ($\Delta \log K$) が減少した。腐植酸のRF値は炭素重量当たりの色の濃さを意味し (熊田, 1981)、堆肥化や腐熟の進行に伴う腐植化度の増加を示していると考えられる。しかし、いずれの腐植酸も極めて未熟なRp型に分類された (Kumada *et al.*, 1967; 熊田, 1981)。水酸化ナトリウム溶液による抽出では、堆肥化5ヶ月後から12ヶ月後までの間に腐植酸炭素量が約1.8倍、フルボ酸炭素量が約1.6倍に増加し、堆肥化に伴う腐植の量的な変

化も認められた。水による抽出では、腐植の抽出割合が極めて低いものの、腐植酸のRF値は水酸化ナトリウム溶液で抽出された腐植酸よりもやや高かった。

2) 原料や堆肥化過程が異なる牛ふん尿堆肥の理化学性および腐熟度

堆肥化および腐熟化の程度が異なる4種類の牛ふん尿堆肥の理化学性およびコマツナ発芽試験の結果を表3に示した。高水分乳牛ふん尿堆肥は、堆積1ヶ月後および5ヶ月後のいずれも水分含量が80%以上と高かったが、堆積期間の経過とともに灰分含量、全窒素含量が増加し、全炭素含量とC/N比が減少した。現地での観察では、堆積5ヶ月後の堆肥において悪臭が強く、データは示さなかったが高濃度の硫化水素が検出されたことから、好氣的な発酵ではなく嫌氣的な発酵が進行したと考えられた。また、堆積5ヶ月後のpHが高かったことは、嫌氣的な分解に伴うアンモニアの生成に起因すると考えられた。一方、肉牛ふん尿敷料堆肥は、水分含量が71%と乳牛ふん尿堆肥よりも低く、灰分含量が低く、かつ全炭素含量が高かったことから、敷料として用いられたカラマン間伐材チップの影響を強く受けていると考えられた。さらに、肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥は、水分含量が52%と他の堆肥よりも低く、鶏糞や野菜残渣を添加したことに加えて、好氣的な発

酵が進行して水分が蒸発したことを反映していると考えられた。

コマツナ発芽試験の結果では、高水分乳牛ふん尿堆肥の発芽率が低く、とくに堆積1ヶ月後の堆肥では全く発芽しなかった。また、堆積5ヶ月後の堆肥は30%が発芽したものの、根長指数が3.8%と極めて低かった。一方、肉牛ふん尿敷料堆肥および混合堆肥の発芽率はいずれも90%以上と高く、作物に悪影響を及ぼさない程度まで腐熟化が進行していると考えられた。一方、根長指数は肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥が肉牛ふん尿敷料堆肥よりも高かった。また、表1に示した牛すん尿パーク堆肥の根長指数と比べても肉牛ふん尿敷料堆肥の根長指数が低く、堆肥化期間が短い肉牛ふん尿敷料堆肥には分解不十分な木質資材が多く含まれ、資材中に植物の生育阻害物質が残存していることを示唆しており(原田, 2004)、腐熟化が十分ではないことを示していると考えられた。

以上のことから、本実験で供試した4点の牛ふん尿堆肥は、原料や堆肥化過程が異なるために堆肥化の進行に伴う腐熟度の変化として単純には比較することはできないものの、高水分乳牛ふん尿堆肥については腐熟化がほとんど進んでおらず、肉牛ふん尿敷料堆肥および肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥については、ある程度の腐熟化が進んでい

表1 堆肥化期間が異なる牛ふん尿パーク堆肥の理化学性およびコマツナ発芽試験結果

堆肥試料	水分含量 灰分含量		pH	EC (dSm ⁻¹)	全炭素含量 全窒素含量		C/N比	発芽率*	根長指数**
	(g kg ⁻¹)				(g kg ⁻¹)				
牛ふん尿パーク堆肥 (5ヶ月)	635	105	7.7	2.9	481	19.1	25.2	86	47
牛ふん尿パーク堆肥 (12ヶ月)	579	180	7.8	4.1	455	22.4	20.3	93	57

水分含量は堆肥現物あたり、灰分含量、全炭素量および全窒素量は堆肥乾物あたりで示した。*発芽率:播種量に対する発芽率を示した。
**根長指数:対照区の根長に対する比率(%)を示した。

表2 堆肥化期間が異なる牛ふん尿パーク堆肥の腐植の形態分析

堆肥試料	NaOH抽出						H ₂ O抽出					
	抽出割合 (%)	PQ*	RF	ΔlogK**	型***	Ch/Cf	抽出割合 (%)	PQ	RF	ΔlogK	型	Ch/Cf
牛ふん尿パーク堆肥 (5ヶ月)	7	44	18	1.0	Rp	3.0	2	27	19	1.0	Rp	1.8
牛ふん尿パーク堆肥 (12ヶ月)	10	60	29	0.9	Rp	3.4	2	46	31	0.9	Rp	2.2

*PQ:沈殿部割合で、抽出腐植量に対する腐植酸量の割合を示した。 **ΔlogK:logK 400 nm - logK 600 nm の式で求めた。 ***型: Kumada らの区分に従った。

表3 堆肥化および腐熟化の程度が異なる牛ふん尿堆肥の理化学性およびコマツナ発芽試験結果

堆肥試料	水分含量 灰分含量		pH	EC (dSm ⁻¹)	全炭素含量 全窒素含量		C/N比	発芽率*	根長指数**
	(g kg ⁻¹)				(g kg ⁻¹)				
高水分乳牛ふん尿堆肥 (1ヶ月)	835	217	6.1	11.4	407	17.7	22.9	0	0
高水分乳牛ふん尿堆肥 (5ヶ月)	819	355	8.8	12.4	334	20.6	16.3	30	4
肉牛ふん尿敷料堆肥	710	146	7.2	3.8	413	18.6	22.2	96	31
肉牛ふん尿敷料と鶏糞 の混合堆肥	522	323	8.4	5.1	343	20.8	16.5	94	53

水分含量は堆肥現物あたり、灰分含量、全炭素量および全窒素量は堆肥乾物あたりで示した。*発芽率:播種量に対する発芽率を示した。
**根長指数:対照区の根長に対する比率(%)を示した。

るが、木質資材を多く含むため、とくに好気的な発酵により短期間の堆肥化を経ただけの肉牛ふん尿敷料堆肥では腐熟化が不十分であることが示された。

3) 腐熟度が異なる牛ふん尿堆肥から抽出された腐植の形態分析

堆肥化および腐熟化の程度が異なる牛ふん尿堆肥から水酸化ナトリウム溶液および水により抽出された腐植の形態分析結果を表4に示した。

水酸化ナトリウム溶液による抽出では、高水分乳牛ふん尿堆肥から約25%の腐植が抽出された。沈殿部割合(PQ)は約60~70%であり、腐植酸の相対色度(RF値)は7と著しく低く、色調係数($\Delta \log K$)も1.3と高く、腐植酸としては極めて未熟なRp型に分類された(Kumada *et al.*, 1967; 熊田, 1981)。高水分乳牛ふん尿堆肥は堆肥化や腐熟化がほとんど進んでいないにも関わらず未熟な腐植酸やフルボ酸が含まれており、これらの成分は主にふん中の未消化繊維、および敷料として利用された少量の麦稈などの植物腐朽遺体に含まれるリグニンを主とする成分に由来すると考えられた(熊田・鈴木, 1969; Suzuki and Kumada, 1972)。肉牛ふん尿敷料堆肥や鶏糞との混合堆肥では、抽出割合が9%ないし13%と低かったものの、PQが65%以上と腐植酸の占める割合が高く、腐植酸のRF値も高水分乳牛ふん尿と比べて高かった。肉牛ふん尿敷料堆肥の腐植酸は未熟なRp型、肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥は腐植化がやや進行したB型に分類された。本研究で供試した牛ふん尿バーク堆肥や肉牛ふん尿敷料堆肥の腐植酸は、おがくず牛ふん堆肥を供試した既存の研究で報告された腐植酸と比べてRF値が著しく高く、とくに肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥では既存の研究では全く認められていないB型に分類された(Suzuki and Kumada, 1976; 渡辺ら, 1981)。堆肥の原料が異なることも考慮すべきであるが、既存の研究が重量として約400kgから数Mg程度、堆積高さ0.8mないし1.5m程度の小規模な堆肥化試験によって製造された試料を供試したのに対し、本研究で対象とした堆肥は重量として数百から数千Mg、堆積高さ3mから4m程度の実規模で製造されたものであり、堆肥内部の温度や圧力の違いが、腐植化に大き

な影響を与えたことが考えられた。本研究で供試した肉牛ふん尿敷料堆肥や鶏糞との混合堆肥の腐植物質では、好気的な発酵に伴ってRF値が低い未熟なRp型腐植酸が相対的に減少したとともに、温度上昇や堆肥の自重に起因する高い圧力によって新たに生成した腐植化度の高い腐植酸が増加したと考えられ、とくに腐熟度の高かった肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥で腐植化の進行が顕著であった。

水抽出では、水酸化ナトリウム溶液による抽出よりも腐植の抽出割合が低く、いずれの堆肥においても10%以下であった。一方、いずれの堆肥試料についても水抽出された腐植酸のRF値は水酸化ナトリウム溶液で抽出された腐植酸よりも高かった。同様の傾向は稲わら堆肥についても認められており、水酸化ナトリウム抽出よりも水抽出で腐植酸のRF値が増加し、 $\Delta \log K$ が減少する結果が報告されている(Suzuki and Kumada, 1972)。豚ふん麦稈混合物の速成堆肥化では、リグニンや生体高分子成分が難分解性腐植酸様物質の核として残存するとともに、堆肥化により生成した易分解性化合物が弱い物理的な結合を介して核を被覆するメカニズムが報告されている(Genevini *et al.*, 2002a; 2002b)。堆肥から水抽出される腐植物質は、水酸化ナトリウムを用いた場合にも抽出されると考えられ、水酸化ナトリウムを用いた場合には、水抽出される腐植物質とともに、リグニンなどRF値の低い未熟な非腐植物質も抽出するため、水酸化ナトリウム抽出よりも水抽出で相対的に高いRF値を示すと考えられた。このように、水酸化ナトリウム抽出よりも水抽出された腐植酸の腐植化が高い結果は、植物腐朽遺体由来のリグニンなどを含む堆肥特有の傾向であると考えられる。好気的な発酵がほとんど進んでいないと判断された高水分乳牛ふん尿堆肥についても、堆肥化期間の経過に伴うRF値の増加と $\Delta \log K$ の減少に示される腐植化の進行が認められたが、腐植酸画分に抽出される脂肪酸などの化合物が分解されたことにより相対的にRF値が上昇したと考えられた(Genevini *et al.*, 2002a)。本研究で供試した堆肥試料の中で最も腐熟度の高かった肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥では、水抽出においてもPQが60%、腐植酸のRF値が50と高く、腐植酸はB型に分類された。水抽出された腐植は水酸化ナ

表4 堆肥化および腐熟化の程度が異なる牛ふん尿堆肥の腐植の形態分析

堆肥試料	NaOH 抽出						H ₂ O 抽出					
	抽出割合 (%)	PQ*	RF	$\Delta \log K$ **	型***	Ch/Cf	抽出割合 (%)	PQ	RF	$\Delta \log K$	型	Ch/Cf
高水分乳牛ふん尿堆肥 (1ヶ月)	24	43	7	1.3	Rp	1.6	7	8	12	1.0	Rp	0.2
高水分乳牛ふん尿堆肥 (5ヶ月)	26	54	7	1.3	Rp	2.1	10	42	17	1.0	Rp	1.6
肉牛ふん尿敷料堆肥	9	66	32	0.9	Rp	1.9	3	32	37	1.0	Rp	1.1
肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥	13	71	41	0.9	B	2.3	6	60	50	0.9	B	4.1

*PQ:沈殿部割合で、抽出腐植量に対する腐植酸量の割合を示した。 ** $\Delta \log K$: $\log K$ 400 nm - $\log K$ 600 nm の式で求めた。 ***型: Kumadaらの区分に従った。

トリウム溶液によって抽出された腐植よりも抽出割合が低いものの、その腐植化の程度は高く、牛ふんや敷料などの原料に由来するリグニンなどの非腐植物質が、水酸化ナトリウム溶液によって多く抽出されることに起因すると考えられた (Adani *et al.*, 1995).

水酸化ナトリウム溶液および水により抽出された有機炭素に占める腐植酸炭素とフルボ酸炭素の分配割合を図1および図2にそれぞれ示した。

水酸化ナトリウム溶液により抽出された有機炭素に占める腐植酸炭素およびフルボ酸炭素の割合は約70~80%であり、高水分乳牛ふん尿堆肥よりも、腐熟化の進んだ肉牛ふん尿敷料堆肥や鶏糞との混合堆肥で腐植酸炭素が占める割合が高かった。フルボ酸炭素は逆の傾向であり、堆肥化や腐熟化が進んだものほど割合が低く、堆肥化および腐熟化の過程においてフルボ酸が微生物の分解を受けたことによるものと推測される (保井ら, 2004)。

水抽出された有機炭素に占める腐植酸炭素およびフルボ酸炭素の割合は約40~70%と水酸化ナトリウム抽出よりも低かった。とくに、高水分乳牛ふん尿堆肥1ヶ月目では、腐植酸炭素の割合が極めて低く、腐植酸やフルボ酸に分画されない成分が多く抽出された。高水分乳牛ふん尿堆肥5ヶ月目では、好気的な発酵を伴う堆肥化や腐熟化が進まなかったが、高水分乳牛ふん尿堆肥1ヶ月目と比べて有機炭素に占める腐植酸炭素の割合が顕著に高かった。高水分乳牛ふん尿堆肥では、嫌気的な発酵により揮発性脂肪酸や易分解性有機物などに由来する有機炭素が減少したことにより腐植酸炭素の占める割合が相対的に増加したと考えられ

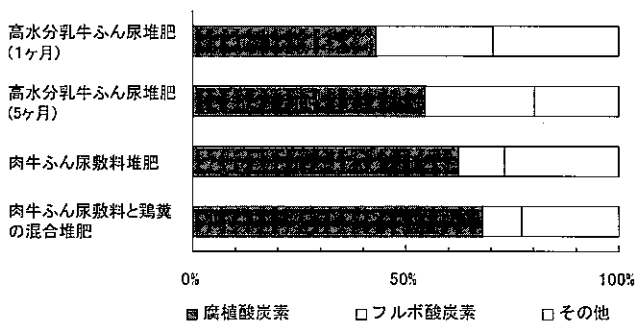


図1 水酸化ナトリウム抽出された有機炭素の腐植物質への分配割合

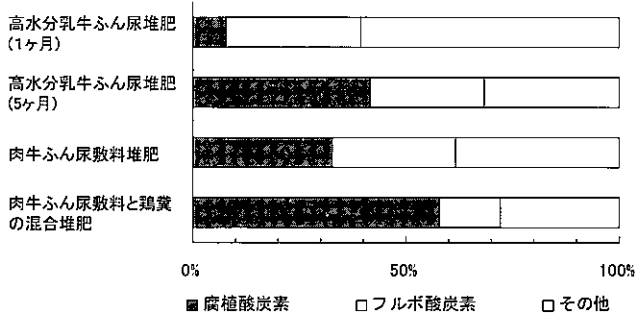


図2 水抽出された有機炭素の腐植物質への分配割合

たが、表3に示したように堆肥化期間の経過に伴ってpHが上昇しており、堆肥化5ヶ月目における高いpHによって腐植酸炭素の抽出割合が高くなったことも一因であると考えられた。一方、肉牛ふん尿敷料堆肥では、鶏糞との混合再発酵により、水抽出された有機炭素に占める腐植酸炭素の割合が増加し、フルボ酸炭素の割合が減少した。肉牛ふん尿敷料堆肥および鶏糞との混合堆肥では、水抽出された腐植酸炭素含量がそれぞれ 3.8 mg g^{-1} および 12.0 mg g^{-1} であり、抽出された有機炭素に占める割合だけでなく、その含量が大幅に増加しており、好気的な発酵を伴う堆肥化と腐熟化過程において生成した可動性の高い腐植酸の増加を反映していると考えられた (Genevini *et al.*, 2002a)。

4) 腐熟度が異なる牛ふん尿堆肥から抽出された腐植酸のスペクトル解析

水酸化ナトリウム溶液および水により抽出・分画した腐植酸について、図3および図4に紫外可視吸収スペクトルを示した。

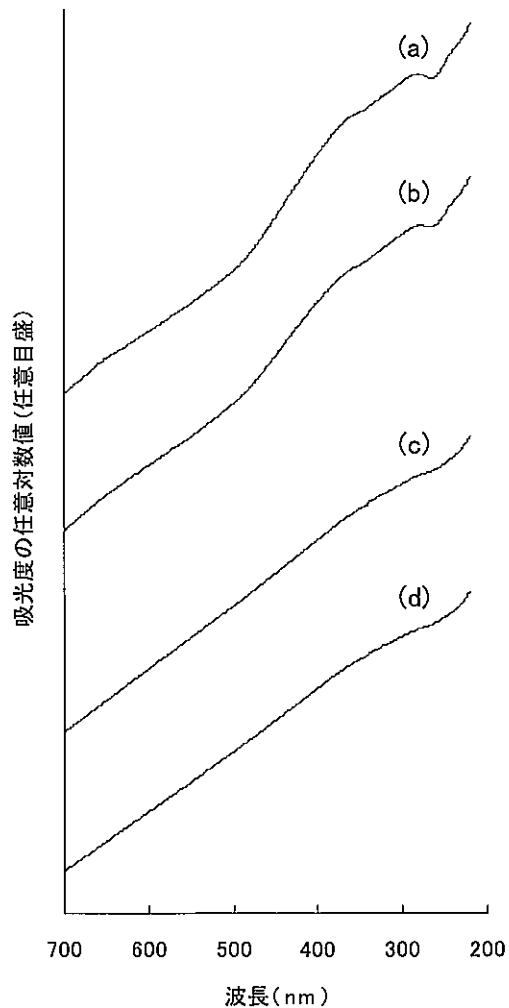


図3 水酸化ナトリウム抽出された腐植酸の紫外可視吸収スペクトル (UV-VIS)

(a) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (1ヶ月), (b) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (5ヶ月), (c) 肉牛ふん尿敷料堆肥, (d) 肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥。

高水分乳牛ふん尿堆肥から水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸では、280 nm 付近の明瞭な肩状吸収とともに、330 nm から 400 nm 付近にかかる緩やかな吸収が顕著に認められた (図 3a, b). これらの特徴はリグニンのスペクトルに類似しており (熊田, 1981), 未熟な乳牛ふん尿スラリーから抽出された腐植酸についても、同様なスペクトルが認められている (保井ら, 2004). また、堆積 1 ヶ月間の高水分乳牛ふん尿堆肥では 660 nm 付近に弱い吸収が認められ (図 3a), クロロフィルもしくはその分解物の存在に由来すると考えられた (熊田・鈴木, 1969; 熊田, 1981). 肉牛ふん尿敷料堆肥および肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥から水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸では、280 nm 付近に極めて弱い肩状吸収が見られたが、330 nm から 400 nm 付近にかかる緩やかな吸収は認められなかった (図 3c, 3d). これらのことは、堆肥の理化学性や腐植の形態分析の結果と同様に、堆肥化や腐熟化がほとんど進行していない高水分乳牛ふん尿堆肥では、原料に含まれるリグニンなどの非腐植物質が水酸化ナトリウム溶液により抽出されたこと、あるいは堆肥化や腐

熟化の進んだ堆肥では腐植化の進行した腐植物質によってリグニンなどに由来する吸収がマスクされていることなどを示していると考えられた.

一方、水抽出された腐植酸では、水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸と比べてリグニンに特徴的な 330 nm から 400 nm 付近にかかる緩やかな吸収が、いずれの堆肥についても明瞭ではなかった. 高水分乳牛ふん尿堆肥から水抽出された腐植酸では、280 nm 付近の弱い肩状吸収および 330 nm から 400 nm 付近にかかる緩やかな吸収がわずかに認められた (図 4a, b). 肉牛ふん尿敷料堆肥および鶏糞との混合堆肥から水抽出された腐植酸では、ほとんど明瞭な吸収が見られなかった (図 4c, d). これらのことは、水抽出される腐植酸は、水酸化ナトリウムによって抽出されるリグニンなどの非腐植物質の影響を受けにくく、とくに好気的な発酵と腐熟化が進行した堆肥では、高い温度と圧力の下に生成した腐植化の進んだ腐植酸の影響を強く反映すると考えられた.

水酸化ナトリウム溶液および水により抽出・分画した腐植酸について、図 5 および図 6 にフーリエ変換赤外吸収スペクトル (FT-IR スペクトル) を示した. 各 FT-IR スペクトルに認められた吸収バンドの帰属は Stevenson (1994) による腐植酸の FT-IR スペクトル分析の概念、物理的に分画した稲わら堆肥から抽出した腐植酸の IR スペクトルの報告 (広瀬・熊田, 1972), 稲わら堆肥や厩肥から抽出した Rp 型腐植酸の IR スペクトルの報告 (Suzuki and Kumada, 1972), 各種廃水処理汚泥を原料とする堆肥から抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルの報告 (Gerasimowicz and Byler, 1985), 牛ふん尿を原料とする堆肥から抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルの報告 (Inbar *et al.*, 1990), 製紙スラッジを原料とする堆肥から抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルの報告 (Provenzano *et al.*, 1998), 都市廃棄物を原料とする堆肥から抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルの報告 (González-Vila *et al.*, 1999), 下水汚泥コンポストから抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルの報告 (Sánchez-Monedero *et al.*, 2002) に従った. 本研究で供試した堆肥から水酸化ナトリウム溶液および水により抽出した腐植酸の FT-IR スペクトルに認められた主要な吸収バンドおよびその帰属は、2920 cm^{-1} 付近 (脂肪族 C-H 伸縮振動), 1720 cm^{-1} 付近 (カルボキシル基の C=O 伸縮振動), 1650 cm^{-1} ~ 1620 cm^{-1} (アミド I の C=O 伸縮振動ないし芳香族 C=C の伸縮振動), 1460 cm^{-1} 付近 (脂肪族 C-H 変角振動ないしリグニン芳香環の伸縮振動), 1220 cm^{-1} 付近 (カルボキシル基の C-O 伸縮振動, O-H 変角振動ないしアミド III の C-N 伸縮振動), 1140 cm^{-1} 付近 (脂肪族 CH₂ の対称伸縮振動, 各種官能基の O-H または C-O 伸縮振動ないし芳香環の変角振動), 1040 cm^{-1} 付近 (多糖の C-O 伸縮) とした.

水酸化ナトリウム溶液により抽出した腐植酸では、高水分乳牛ふん尿堆肥で 1460 cm^{-1} 付近に明瞭な吸収バンドが認められたが (図 5a, b), 肉牛ふん尿敷料堆肥および

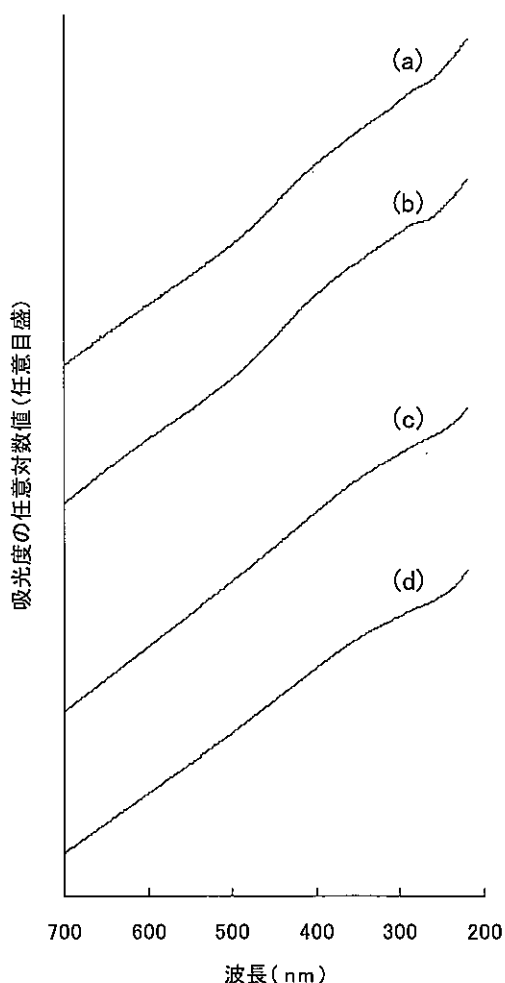


図 4 水抽出された腐植酸の紫外可視吸収スペクトル (UV-VIS) (a) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (1 ヶ月), (b) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (5 ヶ月), (c) 肉牛ふん尿敷料堆肥, (d) 肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥.

鶏糞との混合堆肥ではほとんど認められなかった (図 5c, d). 一般的に, 1460 cm^{-1} 付近の吸収バンドは脂肪族 C-H 変角振動に由来すると考えられるが, 製紙スラッジや都市廃棄物を原料とする堆肥からアルカリ溶液で抽出された腐植酸においては 1460 cm^{-1} ないし 1427 cm^{-1} 付近に同様なバンドが認められ, リグニン芳香環骨格の伸縮振動に由来すると推定されている (Provenzano *et al.*, 1998; González-Vila *et al.*, 1999). また, 都市廃水処理汚泥コンポストから抽出した腐植酸について ^{13}C CPMAS-NMR および FT-IR を用いて解析した研究においても, FT-IR スペクトルで 1455 cm^{-1} 付近に認められた吸収バンドは, 芳香環の伸縮振動に由来する可能性が高いことが報告されている (Gerasimowicz and Byler, 1985). さらに, 稲わらや各種木部のリグニンと堆肥から抽出された腐植酸において, いずれも 1460 cm^{-1} 付近に明瞭な吸収バンドが認められ, 1500 から 1400 cm^{-1} にわたるパターンに類似性が認められることなどが報告されている (広瀬・熊田, 1972; Suzuki and Kumada, 1972). 以上のことから, 高水分乳牛ふん尿堆肥でのみ認められた 1460 cm^{-1} 付近の明瞭な吸収

バンドは, 紫外可視吸収スペクトルで得られた結果と同様に, 堆肥の原料に含まれるリグニンなどの非腐植物質の構造を強く反映していると考えられた. 1620 cm^{-1} 付近の吸収バンドは主に 1650 cm^{-1} 付近のアミド I の C=O 伸縮振動および 1600 cm^{-1} 付近の芳香族 C=C の伸縮振動に由来する二重バンドと考えられ, 肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥で強い吸収が認められた (図 5d). 堆肥からアルカリ溶液によって抽出される腐植酸に認められる 1650 から 1600 cm^{-1} 付近のブロードな吸収バンドは, 主にタンパクやペプチド態窒素の存在に起因すると考えられており, 堆肥化の進行に伴う窒素含量の増加, および安定的なタンパクの濃縮によって吸収バンドの強度が増加すると報告されている. (広瀬・熊田, 1972; Gerasimowicz and Byler, 1985; González-Vila *et al.*, 1999). 肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥で明瞭な吸収バンドが認められたことは, 堆肥化や腐熟化の進行により窒素含量が高いことに加え, 鶏糞との混合による高い温度での好気発酵に伴って, より安定的なタンパクあるいはタンパク様物質が相対的に濃縮された影響を反映していると考えられた. また, いずれの堆

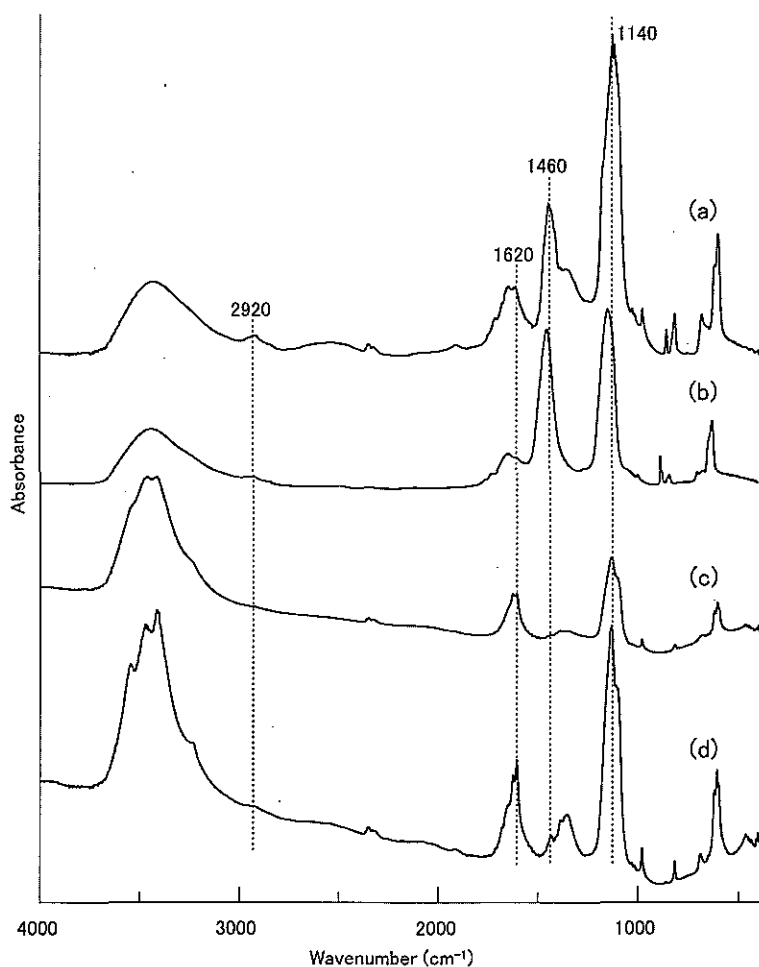


図5 水酸化ナトリウム抽出された腐植酸のフーリエ変換赤外吸収スペクトル (FT-IR) (a) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (1ヶ月), (b) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (5ヶ月), (c) 肉牛ふん尿敷料堆肥, (d) 肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥.

肥から抽出した腐植酸でも認められた 1140 cm^{-1} 付近の顕著な吸収バンドは、脂肪族 CH_2 の対称伸縮振動に由来する部分と多糖類の C-O 伸縮振動に由来する部分が重なった二重バンドと推定されたが、既存の研究における腐植酸の吸収バンドとしてはあまり認められておらず、本研究の結果だけで帰属を判定することは難しいと考えられた。

一方、水抽出された腐植酸では、水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸と比べて FT-IR スペクトルの形状が著しく異なり、それぞれの抽出剤で抽出された腐植酸の構造単位の存在割合が大きく異なることが示された。高水分乳牛ふん尿堆肥から水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸で認められた 1460 cm^{-1} 付近のリグニン芳香環の伸縮振動に由来すると考えられる吸収バンドは認められず、水抽出された腐植酸の紫外可視吸収スペクトルで得られた結果と一致した。水抽出された腐植酸では、 1720 cm^{-1} 付近および 1220 cm^{-1} 付近のカルボキシル基に由来するとされる吸収バンドが顕著であり、とくに肉牛ふん尿敷料堆肥および鶏糞との混合堆肥で強い吸収バンドが認められた (図 6c, d)。稲わら堆肥および固液分離した牛ふ

ん尿や製紙スラッジなどを原料として製造された堆肥から水酸化ナトリウム溶液やピロリン酸ナトリウム溶液との混液を用いて抽出された腐植酸を対象とした既存の研究例では、 1720 cm^{-1} 付近のカルボキシル基に由来する吸収バンドがほとんど認められない (Suzuki and Kumada, 1972; Provenzano *et al.*, 1998), あるいはわずかな肩状ピークしか認められていない (Inbar *et al.*, 1990)。本研究で供試した堆肥についても、水酸化ナトリウムにより抽出された腐植酸のスペクトルには、 1720 cm^{-1} 付近に明瞭なバンドが認められなかった。水抽出された腐植酸では 1650 cm^{-1} 付近のアミド I の C=O 伸縮振動に由来するとされる吸収バンドも明瞭であり、堆肥化や腐熟化が進行した堆肥で顕著であった (図 6c, d)。一方、 2920 cm^{-1} 付近の脂肪族 C-H 伸縮振動に由来する吸収バンド、および 1040 cm^{-1} 付近の多糖 C-O 伸縮に由来する吸収バンドも認められたが、堆肥による大きな差は認められなかった。原料に含まれる糖類は堆肥化過程で比較的早く分解されると考えられるが、本研究では同じ原料に由来する堆肥を供試していないため、糖に由来する吸収バンドの強度が減少しなかったと考

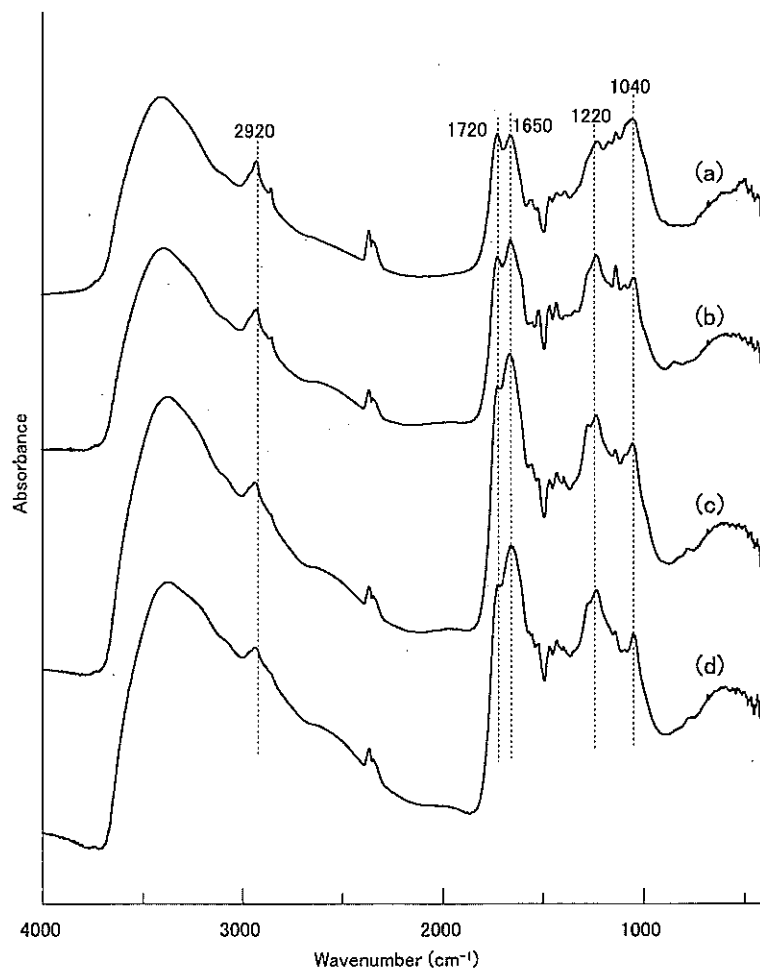


図6 水抽出された腐植酸のフーリエ変換赤外吸収スペクトル (FT-IR) (a) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (1ヶ月), (b) 高水分乳牛ふん尿堆肥 (5ヶ月), (c) 肉牛ふん尿敷料堆肥, (d) 肉牛ふん尿敷料と鶏糞の混合堆肥。

えられる。また、都市廃棄物を原料とする堆肥について、7週間の堆肥化前後においてFT-IRスペクトルでは1010 cm⁻¹付近の糖に由来する吸収バンドに大きな差が見られなかったのに対し、¹³C-NMRでは炭水化物に由来する領域が堆肥化の進行に伴って明瞭に減少することが報告されており (González-Vila *et al.*, 1999)、今後は他のスペクトル解析も組み合わせて検討する必要があると考えられる。

以上の紫外可視吸収スペクトルおよびFT-IRスペクトル解析の結果から、堆肥化や腐熟化の程度が大きく異なる牛ふん尿堆肥から抽出された腐植酸の構造単位の存在割合は著しく異なることが明らかとなった。水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸では、とくに堆肥化がほとんど進行していない高水分乳牛ふん尿堆肥でリグニンなど原料中の植物腐朽遺体に由来する構造を強く反映した。一方、水により抽出された可動性の高い腐植酸では、とくに堆肥化や腐熟化が進行した肉牛ふん尿敷料堆肥や鶏糞との混合堆肥でカルボキシル基やアミドなどの腐植酸の構造単位の顕著な違いが認められた。

4. 結 論

本研究では実規模で製造および利用されている牛ふん尿堆肥を対象に、堆肥化や腐熟化に伴う腐植酸およびフルボ酸の光学的特性や構造特性の変化を明らかにした。その結果、好気的な発酵や十分な腐熟化を経た牛ふん尿パーク堆肥や肉牛ふん尿敷料堆肥では、腐植酸の量と光学的特性が著しく変化し、とくに相対色度の増加が顕著であった。実験室規模や小規模堆肥化試験から得られた既存の研究結果とは異なり、相対色度は40前後と高い値を示した。一方、好気的な発酵がほとんど生じないために、その処理と利用が課題となっている高水分乳牛ふん尿堆肥は、堆積に伴う腐植化はほとんど進行せず、腐植酸の構造単位の存在割合も未消化繊維や敷料などの植物腐朽遺体に由来するリグニンなどの非腐植物質の特性を強く反映した。また、実際の圃場還元において、土壌中での可動性が高く、植物の生育や生理活性に直接的に影響を与えられられる水抽出される腐植酸は、水酸化ナトリウム溶液により抽出される腐植酸よりも相対的に腐植化が進んでおり、とくに堆肥化や腐熟化が進行した肉牛ふん尿敷料堆肥や肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥から水抽出された腐植酸ではカルボキシル基やアミドなどの構造単位が顕著に認められた。

5. 要 約

本研究では、堆肥化の進行や腐熟化が大きく異なる牛ふん尿堆肥について、堆肥製造業者や一般の畜産農家および畑作農家が製造し、かつ圃場還元している実際的な堆肥を対象に、牛ふん尿の堆肥化と腐熟化に伴う腐植酸およびフルボ酸の化学的特徴、および腐植酸のスペクトル解析から構造単位の存在割合の違いを明らかにした。さらに、土壌中での可動性が異なると考えられる腐植を水および水酸化ナトリウム溶液により抽出して比較し、その化学的特徴や

構造単位の違いを明らかにした。

堆肥化期間が異なる牛ふん尿パーク堆肥では、堆肥化による腐熟化の進行に伴って、沈殿部割合や腐植酸の相対色度 (RF 値) が増加した。

堆肥化および腐熟化の程度が異なる4種類の牛ふん尿堆肥から水酸化ナトリウム溶液および水により抽出された腐植酸とフルボ酸の光学的特性を比較した。水酸化ナトリウム溶液では、堆肥化や腐熟化がほとんど進行していないと判断された高水分乳牛ふん尿堆肥から極めて未熟なRp型腐植酸が抽出され、牛ふん中の未消化繊維や敷料などの植物腐朽遺体に由来するリグニンなどの成分に由来すると考えられた。腐熟化の進行が認められた肉牛ふん尿敷料堆肥や肉牛ふん尿敷料と鶏糞との混合堆肥では、好気的な発酵と温度上昇に伴って生成した腐植化の進んだ腐植酸が含まれていると考えられ、とくに腐熟度の高かった鶏糞との混合堆肥からB型腐植酸が抽出された。水抽出では、水酸化ナトリウム溶液による抽出よりも腐植の抽出割合が低かったが、水抽出された腐植酸のRF値は水酸化ナトリウム溶液で抽出された腐植酸よりも高かった。

紫外可視吸収スペクトルおよびフーリエ変換赤外吸収スペクトル解析の結果から、堆肥化や腐熟化の程度が大きく異なる牛ふん尿堆肥から抽出された腐植酸の構造単位の存在割合は著しく異なることが明らかとなった。水酸化ナトリウム溶液により抽出された腐植酸では、とくに堆肥化がほとんど進行していない高水分乳牛ふん尿堆肥において、植物腐朽遺体に起因するリグニンなど非腐植物質の構造特性を強く反映した。一方、水により抽出された可動性の高い腐植酸では、とくに堆肥化や腐熟化が進行した肉牛ふん尿敷料堆肥や混合堆肥でカルボキシル基やアミドなどの構造単位が顕著に認められた。

文 献

- Adani, F., Genevini, P. L., and Tambone, F. 1995. A new index of organic matter stability. *Compost Sci. Util.*, 3, 25-37.
- Cacco, G., and Dell' Agnola, G. 1984. Plant growth regulator activity of soluble humic complex. *Can. J. Soil Sci.*, 62, 306-310.
- Clapp, C. E., Chen, Y., Hayes, M. H. B., and Cheng, H. H. 2001. Plant growth promoting activity of humic substances. In R. S. Swift and K. M. Sparks (ed.) *Understanding and Managing Organic Matter in Soils, Sediments, and Waters*, p. 243-255. International Humic Science Society, Madison.
- Dell' Agnola, G., and Nardi, S. 1987. Hormone-like effect and enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. *Biol. Fertil. Soils*, 4, 115-118.
- 藤原俊六郎 2003. 堆肥のつくり方・使い方—原理から実際まで、農文協、東京。
- Genevini, P., Adani, F., Veeken, A. H. M., and Scaglia, B. 2002a. Evolution of humic acid-like and core-humic acid-like during high-rate composting of pig faeces amended with wheat straw. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 48, 135-141.
- Genevini, P., Adani, F., Veeken, A. H. M., Nierop, K. G. J., Scaglia, B., and Dijlema, C. 2002b. Qualitative modifications of humic acid-

- like and core-humic acid-like during high-rate composting of pig faeces amended with wheat straw. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **48**, 143–150.
- Gerasimowicz, W. V., and Byler, D. M. 1985. Carbon-13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic studies of humic acids. *Soil Sci.*, **139**, 270–278.
- González-Vila, F. J., Aimendros, G., and Madrid, F. 1999. Molecular alterations of organic fractions from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil. *Sci. Total Environ.*, **236**, 215–229.
- 原田靖生 1983. 家畜ふん尿堆肥の品質基準及びその判定法と残された問題点. 農林水産省農業研究センター編 有機物の処理・流通・利用システム, p.142–163. 総合農業研究叢書, 第7号.
- Harada, Y., Haga, K., Osada, T., and Koshino, M. 1993. Quality of compost produced from animal wastes. *JARQ*, **26**, 283–246.
- 原田靖生 2004. 家畜ふん堆肥の腐熟度. 農文協編 畜産環境対策大事典第2版, p.114–120. 農文協, 東京.
- 広瀬春朗・熊田恭一 1972. 物理的に分画した稲わら堆肥の性状 (その2) 植物遺体の腐朽化過程に関する化学的研究 (第3報). 土肥誌, **43**, 115–118.
- 北海道立農業・畜産試験場家畜ふん尿プロジェクトチーム 2004. 家畜ふん尿処理・利用の手引き2004, p.17–18. 北海道立畜産試験場, 北海道.
- Inbar, Y., Chen, Y., and Hadar, Y. 1990. Humic substances formed during the composting of organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **54**, 1316–1323.
- Kumada, K., Sato, O., Ohsumi, Y., and Ohta, S. 1967. Humus composition of mountain soils in central Japan with special reference to the distribution of P type humic acid. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **13**, 151–158.
- 熊田恭一・鈴木正昭 1969. 腐朽植物遺体の腐植組成. 土肥誌, **40**, 353–357.
- 熊田恭一 1981. 土壌有機物の化学—第2版—. 学会出版センター, 東京.
- Maggioni, A., Varanini, Z., Nardi, S., and Pinton, R. 1987. Action of soil humic matter on plant roots: stimulation of ion uptake and effects on $(Mg^{2+} K^+)ATPase$ activity. *Sci. Total Environ.*, **62**, 355–363.
- Maie, N., Watanabe, A., Hayamizu, K., and Kimura, M. 2002. Comparison of chemical characteristics of Type A humic acids extracted from subsoils of paddy fields and surface and soils. *Geoderma*, **106**, 1–19.
- 松崎敏英 1992. 土と堆肥と有機物, 社団法人家の光協会, 東京.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.*, **34**, 1527–1536.
- 日本土壌協会 2000. 堆肥等有機物分析法, 日本土壌協会, 東京.
- 太田誠一 1985. 中央ネパール・カリガンダキ河流域に分布する土壌の気候的遷移について—2—土壌有機物の蓄積と腐植組成. ペドロジスト, **29**, 18–32.
- Pinton, P., Cesco, S., De Nobili, M., Santi, S., and Varanini, Z. 1998. Water- and pyrophosphate- extractable humic substances fractions as a source of iron for Fe-deficient cucumber plants. *Biol. Fertil. Soils*, **26**, 23–27.
- Pizzeghello, D., Nicolini, G., and Nardi, S. 2001. Hormone-like activity of humic substances in *Fagus sylvatica* forests. *New Phytologist*, **151**, 647–657.
- Provenzano, M. R., Senesi, N., and Miikki, V. 1998. Characterization of composts and humic acids from pulp and paper mill biosludges by DSC in association with FT-IR spectroscopy. *J. Thermal Analysis*, **52**, 1037–1046.
- Sánchez-Monedero, M. A., Cegarra, J., García, D., and Roig, A. 2002. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation*, **13**, 361–371.
- 志賀一・藤田秀保・徳永隆一・吉原大二 2001. 酪農における家畜ふん尿処理と地域利用—循環型農業をめざして—, 酪総研, 札幌.
- Stevenson, F. J. 1994. Humus Chemistry 2nd ed., p. 495, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Suzuki, M., and Kumada K. 1972. Several properties of Rp type humic acid. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **18**, 53–64.
- Suzuki, M., and Kumada K. 1976. Analysis of the rotting process of sawdust barnyard manure. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **22**, 361–372.
- 立川 涼 1966. 土壌および液試料中の有機物の迅速定量法ならび糖類に関する二, 三の定量法. 土肥誌, **37**, 28–33.
- Veeken, A., Nierop, K., de Wilde, V., and Hamelers, B. 2000. Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste. *Bioresour. Technol.*, **72**, 33–41.
- 渡辺 実・板川秀雄・矢崎仁也 1981. おがくず牛ふん堆積物の腐熟過程. 土肥誌, **52**, 339–346.
- Watanabe, A., and Kuwatsuka, S. 1992. Chemical characteristics of soil fulvic acids fractionated using polyvinylpyrrolidone (PVP). *Soil Sci. Plant Nutr.*, **38**, 31–41.
- 保井聖一・筒木 潔・明石憲宗・木村義彰 2004. 乳牛ふん尿消化液から抽出した腐植酸およびフルボ酸の化学的特徴. 土肥誌, **75**, 347–354.

Chemical characteristics of humic and fulvic acids in cattle manure practically processed and applied in a field

Xiangzhen LI¹, Masayuki TANI², Daigo AIUCHI¹, Masanori KOIKE² and Katsuhisa KURAMOCHI²

¹ The United Grad. Sch. Agric. Sci., Iwate Univ.,

² Dep. Agro-Environ. Sci., Obihiro Univ. Agric. Vet. Med.

Recently special attention has been paid to the humification of organic wastes during composting to evaluate maturity and quality of products. The effects of composting period and degree of maturity on production and optical characteristics of humic substance and structural features of humic acid in practically processed cattle manures were investigated. Beef cattle manure, which were mixed with bark litter and well composted (bark compost) by monthly turning for 5 and 12 months, were selected to evaluate effects of composting periods on the humification. Relative color density (*RF* value) of humic acid in bark composts increased with increase in the duration of composting. Optical characteristics and structural features of humic acids extracted by water and NaOH solution from four selected dairy and beef cattle manures, which showed completely

different degree of maturity, were compared. Humic acids extracted by NaOH solution from dairy cattle manures, which were extremely high in moisture and not aerobically composted, were classified into the immature Rp-type and characterized by lignin-like structures from UV-VIS and FT-IR spectra. Aerobically fermented and well-matured beef cattle manure contained the humified B-type humic acid, which was characterized by carboxylic group and amide structures. These functional groups were more remarkable in the water-extracted humic acids than NaOH-extracted ones. It was concluded that practically well processed and matured cattle manure, which had been selected in the present study, contained highly humified organic matter compared to those reported in the previous studies, probably due to high temperature and its own heavy weight on a large scale.

Key words: cattle manure, field application, humic acid, fulvic acid, Fourier-transform infrared (FT-IR) spectra.

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., 80, 335–346, 2009)